

[综合评述]

环肽合成方法的研究进展

唐艳春 田桂玲 叶蕴华

(生物有机与分子工程教育部重点实验室, 北京大学化学与分子工程学院, 北京 100871)

摘要 介绍了纯环肽与杂环肽合成的方法、策略及其优缺点, 列举了一些常用缩合试剂, 探讨了反应溶液浓度、线型肽前体化合物的结构及构象等因素对环化反应的影响.

关键词 环肽; 缩合试剂; 环化

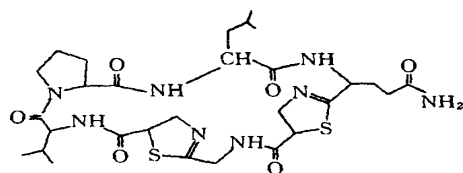
中图分类号 O629

文献标识码 A

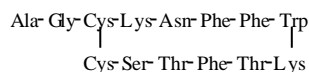
文章编号 0251-0790(2000)07-1056-08

环肽可分为两类, 一类为纯环肽(Homodetic cyclopeptide), 氨基酸^[1]之间均以酰胺键相连; 另一类为杂环肽(Heterodetic cyclopeptide), 结构中除酰胺键外还有酯键、醚键、硫酯键和二硫键等. 环肽在自然界中分布广泛, 植物、动物、低等海洋生物、微生物、细菌和病菌等都含有微量的环肽. 这些环肽的含量虽然低, 但其中不少具有明显的生理活性. 因此受到国内外许多化学家、生物学家和药学家的重视. 他们从自然界中提取到各种各样有生理活性的环肽. 早在 1944 年, Gause 从细菌中分离出环十肽短杆菌肽 GS(Gramicidin S), GS 对格兰氏阳性菌有很强的抗菌能力^[2]. 脑下垂体后叶激素中催产素(Oxytocin)^[3]与加压素(Vasopressin)^[4]均为最早研究的杂环肽, 它们的结构中均含硫—硫键.

Pettic 等^[5]从印度海兔中提取分离了 9 种抗肿瘤与细胞毒的 Dolastatins, 其中 Dolastatin 3 为含有两个噻唑氨基酸(Thz)的环五肽 c[Pro-Leu-Val-(glu)Thz-(gly)Thz]. Guillemin 等^[6]从 50 万头羊的下丘脑中分离得到了 8.5 mg 生长激素释放抑制因子 Somatostatin(SRIH), 它是一个含二硫键的环十四肽激素, 它不但能抑制生长激素的释放, 而且还能抑制许多其它生理活性物质的释放, 如胰高血糖素和胰岛素等. 由于它分布在脊髓节和各种脑区域中, 所以化学家们推测其可能有神经递质的作用.

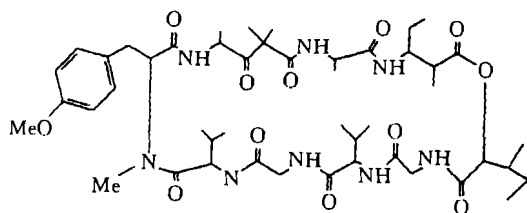


(Dolastatin 3)

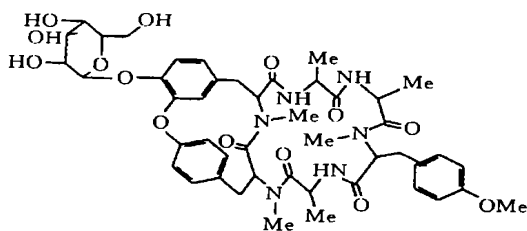


Somatotropin release inhibiting factor
(SRIH)

Jonmynder 等^[7]从海藻中分离出一种环酯肽 Majusculamide(结构如下式), 它对 X-5563 骨髓瘤阻断效果达 35 %^[7]. 我国化学工作者也从天然产物中分离提取了许多有生理活性的环肽.



(Majusculamide)



(小红参环肽)

周俊等^[810]从我国传统中草药中分离鉴定了 70 余种环肽, 其中从小红参肽中提取出来的两个环肽

收稿日期: 1999-10-07.

基金项目: 国家自然科学基金(批准号: 29772001)资助.

联系人简介: 叶蕴华(1936 年出生), 女, 教授, 从事生物有机化学研究.

中有一个带有糖苷配体与 *N*-甲基氨基酸残基, 显示对 P-388 肉瘤有较强的抑制活性。

由于环肽主链呈环状结构, 具有一定的构象约束作用, 其构象相对线型肽有一定的稳定性, 其抗酶解能力比线型肽强。这一特点使环肽具有许多重要性质。药学家们发现某些具有生理活性的线型肽或其类似物经头尾或侧链环化后所得环肽类似物限制了分子的构象, 使其活性增强^[11], 如 c[Cpa-Lys(Ac)-D-Nal-Tyr-Leu] 对 LHRH 受体有亲和性, 表现出拮抗作用^[12]。化学家们还用环肽模拟蛋白质和其它的一些受体的活性部位的结构, 由此寻求蛋白质的构象与功能之间的关系^[13, 14]。还有人利用环肽的孔穴来研究环肽及其修饰物对小离子的选择作用^[15, 16]。

环肽的结构特点以及它在化学及药理学上的优势引起了化学家们的兴趣, 然而与线型肽相比, 环肽的合成要困难得多。环化反应属分子内反应, 反应需在高度稀释的溶液中进行, 但仍难以避免二聚体及多聚体的生成, 为克服分子间副反应, 寻找可获得高产率、低消旋的环肽合成方法已引起人们重视。

1 纯环肽的合成

纯环肽的合成文献报道很多, 主要有溶液合成法和固相合成法两种。溶液法合成环肽是在高度稀释的溶液中进行 ($10^{-3} \sim 10^{-4}$ mol/L), 游离的线型肽首尾相连成环。固相合成法则是在树脂上成环, 成环后从树脂上脱下得到环肽。

1.1 溶液法合成环肽

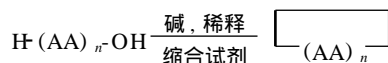
溶液法是经典的合成方法, 线型肽成环属于分子内反应, 为避免发生分子间反应生成线性或环状的二聚和多聚体, 一般在高度稀释的溶液 ($10^{-3} \sim 10^{-4}$ mol/L) 中进行。溶液法合成环肽可直接反应, 即将脱保护后的线型肽前体直接在缩合试剂的缩合下成环, 也可先将一端(一般为 C 端)活化, 然后成环。C 端活化成环常用的方法有活泼酯法、叠氮法和混合酸酐法等。

1.1.1 活泼酯法 活泼酯法是最初合成环肽的常用方法, 将羧基制成活泼酯脱去 *N*-端保护基然后成环。活泼酯法有硝基苯酯法(ONP)^[17], *N*-羟基琥珀酰亚胺法(OSu)^[18]和五氟苯酯法(PfP)^[19]等。活泼酯中间体具有一定的稳定性, 可以分离、纯化和存放, 也有一定反应活性, 但活泼酯的立体效应大, 反应活性不高, 使环化速度减慢, 这样羧基活化的多肽链在溶液体系中长期存在增加了消旋的可能^[20]。

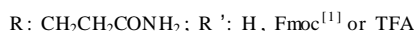
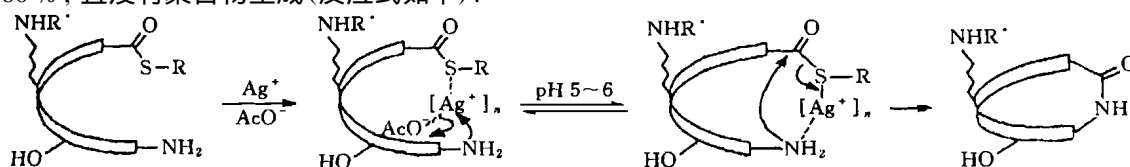
1.1.2 叠氮法 叠氮法是将羧端制成酰基叠氮活泼中间体, 在稀释的碱性溶液中成环。叠氮法引起的消旋较小, 比活泼酯法效率高^[21], 酰基叠氮中间体不稳定, 叠氮酸有毒, 制备步骤繁琐。

1.1.3 混合酸酐法 混合酸酐法^[22]是将羧端制成混合酸酐, 然后在稀释的碱性溶液中成环, 由于活泼中间体极不稳定, 所以在制备酸酐时要严格保持低温, 使用的仪器、溶剂必需绝对干燥。

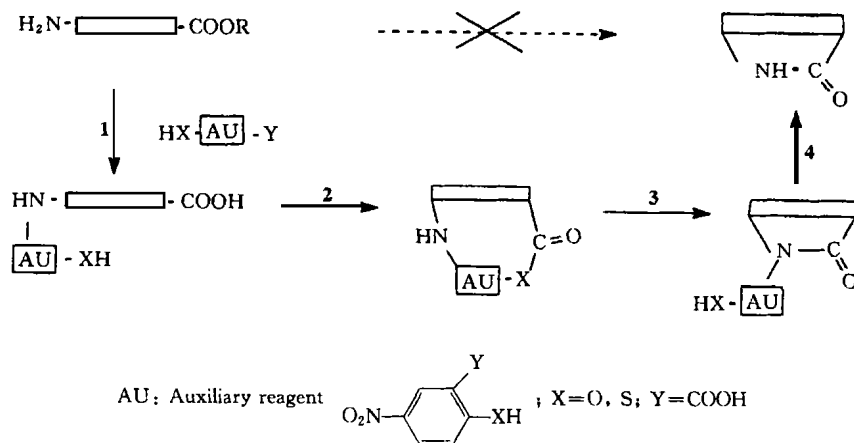
1.1.4 直接法 使用直接法, 线型肽不必制成中间体, 只在两端游离的线型肽稀溶液中加入有效的缩合试剂缩合直接成环。



1.1.5 硫酯法 最近 Tam 等^[23]将 Aimoto^[24]提出的硫酯法用于环肽的合成。硫酯法合成环肽与一般的溶液法不同, 主要表现为两点: 一是线型多肽的侧链除氨基、巯基外其它官能团不必保护; 二是克服了反应必须在低浓度下进行的缺点。先用固相法合成 C 端为硫酯的线型肽, 将其从树脂上裂解下来, 然后在溶液中环化。溶液中加入有一定络合能力的金属离子 (Ag^+ , Cu^{2+} , Hg^{2+}), 由于金属离子对 S, N, O 的亲顺序为 $\text{S} \gg \text{N} > \text{O}$, 使 N 端与 C 端靠近, 最后 S 与金属离子络合从 C 端脱下, N 端与 C 端成环。通过调节缓冲溶液的 pH 值可以使产率在比较高的反应液浓度下 (20 mmol/L) 达到 50 % ~ 60 %, 且没有聚合物生成(反应式如下)。

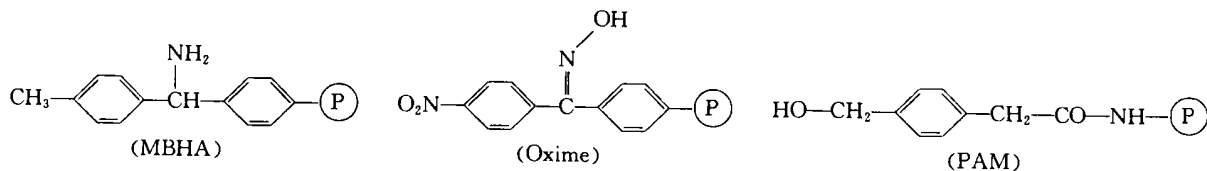


1.1.6 辅助成环法 Meutermans 等^[25]认为,小环肽不易合成是因为肽链太短,头尾相连的机会较长链线型肽难,因此生成的聚合物多,产率低,他们利用对光不稳定的辅助剂帮助成环^[26].此辅助剂一端为活泼羟基或巯基,另一端则是能与氨基反应的活性基团.辅助剂先与线型肽的氨基反应,然后活泼羟基(巯基)与 C 端缩合成环,由于“肽链”相对增长,环化产率提高.成环后的产物在 360 nm 光照下,辅助剂从环肽中脱下,而原线型肽自动成环.这一合成策略(反应式如下)有利于解决短的线型肽环化的困难.



1.2 固相法合成环肽

固相法合成环肽是在树脂上环化,然后脱落下来,因而避免了分子间的二聚和多聚,反应不需在高度稀释的溶液中进行,过量的缩合试剂及副产物可通过洗涤与过滤除去.近年来随着较温和的正交保护策略的发展和有效的缩合试剂的出现以及分离手段的不断发展,越来越多的人倾向用固相法合成环肽,尤其是用于中环肽的合成.固相合成常用 MBHA, Oxime 和 PAM 等树脂^[27].树脂上的活性基团是肽链形成的关键,活性基团一般为活泼氨基,羟基及巯基等,活性基团的稳定性决定氨基酸保护基的选择.如树脂中的活性基团,对硝基苯甲基肟对碱不稳定,因此不适合 Fmoc 保护策略而适合于 Boc 策略,活性基团的多少以每克树脂上活性基团的毫摩尔数(又称取代度)表示.



固相合成环肽的成功之处在于各种不同性质的保护基的正确搭配.保护基有暂时保护基、半永久保护基及永久保护基.暂时保护基如 Boc, Fmoc, 每接完一个氨基酸便脱一次保护.半永久保护基则在成环前脱下,一般是用于保护侧链的氨基或羧基.永久保护基是在成环后脱下,如侧链保护基 Bzl, Tos 等.暂时保护基常用 Boc, Fmoc, 相对应的永久保护基一般为 Bzl, *t*-Bu. 半永久保护基形式比较多,如 Fm, Dmb 等. Boc 和 Fmoc 也可用于半永久保护基.适当地利用各种保护基的不同稳定性,依次脱去保护基,最后合成目标产物的策略称为正交保护策略^[27].

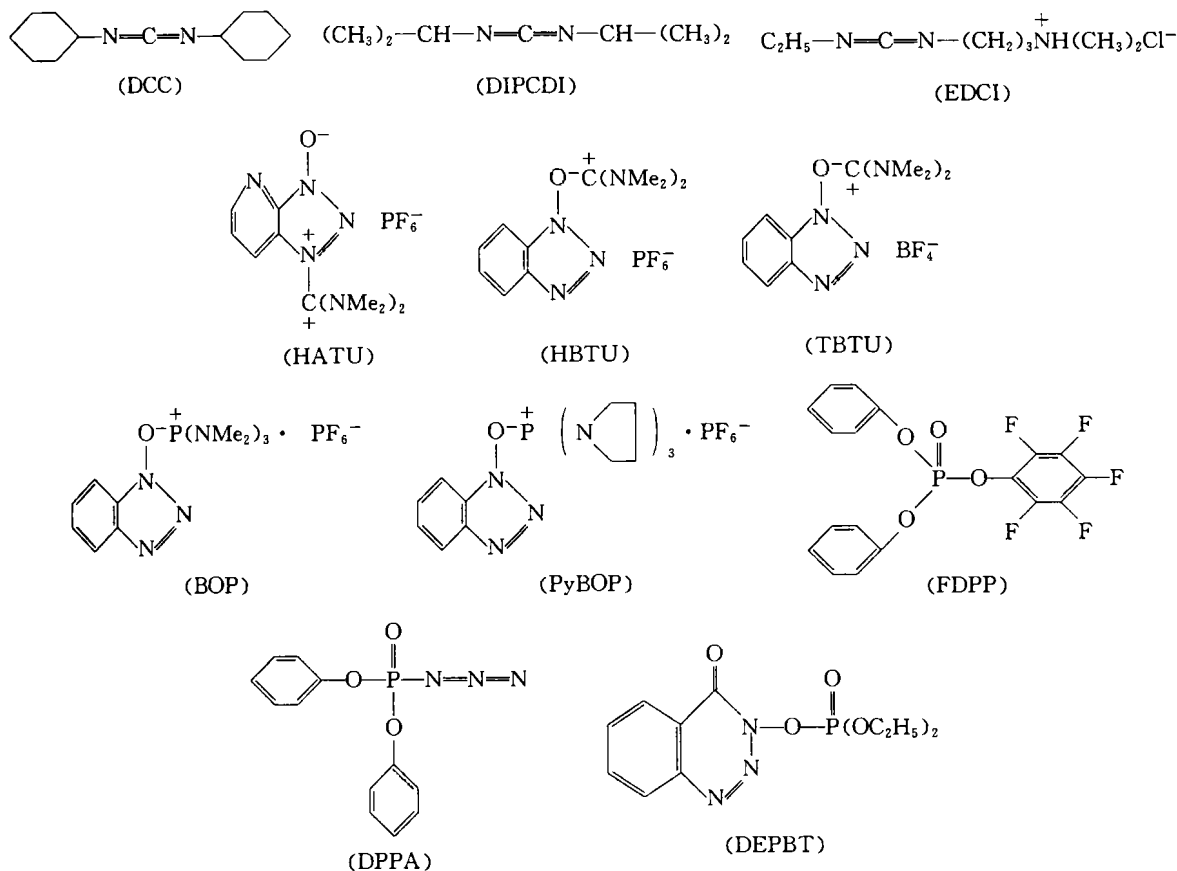
氨基酸的侧链(如 Asp, Glu 的侧链羧基; Ser, Thr 等的侧链羟基)及羧端均可通过缩合反应固载在树脂上,若氨基酸的 C 端固载在树脂上则有 3 种成环方式:(1)头-尾成环,脱去 N 端保护,游离的氨基进攻接在树脂上的 C 末端,成环的同时目标环肽从树脂上脱下^[28]. Oxime 树脂常用于头-尾成环的 Boc 保护策略. Oxime 树脂的特点是线型肽的 N 端可在温和的条件下进攻固载在树脂上的酯基中的羰基,成环后从树脂上脱下.但由于载有肽链的 Oxime 树脂对碱不太稳定,因此每接一次氨基酸,肽链有可能从树脂上脱下来,造成目标环肽产率偏低,该法用于寡环肽的合成则比较适宜.(2)侧链-侧链成环^[29],即侧链的氨基(如 Lys, Orn)与侧链的羧基(如 Asp, Glu)成环.(3)侧链有羧基的氨基酸与 N 端成环^[30].若氨基酸的侧链固载于树脂上则主要为头-尾成环方式^[31, 32].

固相法适合于中环肽的合成, Akaji^[33]等利用 Heck 反应,分别用固相和溶液法合成环肽,发现固

相法反应速度比溶液法快. Valero 等^[34]用 3 种不同方法合成一个环十五肽, 溶液法的产率比固相法低.

2 常用的缩合试剂

无论是溶液法还是固相法环化, 缩合试剂的选择都是很重要的, 随着环肽合成的不断发展, 新型的缩合试剂也不断出现, 以下为常用的几种缩合试剂.



Schiller^[35]曾报道在合成阿片样物质的类似物(侧链-侧链成环)时以 DCC/ HOBt 作缩合试剂在 DMF 中反应几天, 每隔一段时间就加入新鲜的 DCC 及 HOBt, 可得到 6% ~ 22% 的产率. DIPCDI 是 DCC 的类似物, 也是一经典的缩合试剂, Plaue^[36]曾用 DIPCDI/ HOBt 合成过一系列环肽, 反应一般在 3 d 内完成. EDCI 是水溶性的 DCC 类似物, 它的优点是副产物可以用酸洗去, 比 DCC 法产生的 DCU 易除净.

Felix 等^[37]比较了 BOP 与 DCC/ HOBt 固相合成环肽的缩合效率, 发现 BOP 环化的速度较 DCC 快, 且纯度高. 但 BOP 在缩合过程中引起的消旋现象比较严重^[38], 可在反应中加入 HOBt 或 HOAt 添加剂与位阻大的碱, 尽量减少消旋程度. 此外研究表明, BOP 反应后的副产物 HMPA 是致癌物质. 若用 BOP 的类似物 PyBOP 代替 BOP, 生成的副产物毒性大大降低. PyBOP, PyAOP 是 BOP 的类似物, 它们的缩合效率相似^[39]. HATU 是一类新型的缩合试剂^[40], 它的类似物 HBTU 及 HAPyU 能增加成环的速度和产率, 减少消旋, 还适合于合成位阻比较大的和复杂的环肽. TBTU 也是一类缩合效率很高的缩合试剂, Gobbo 在溶液法合成环肽时用 TBTU 与 HOBt 在 DMF 中反应, 用 DIPEA 调 pH 8.9, 3060 min 反应便已基本完全^[41]. DPPA, DEPBT 及 FDPP 均属于比较温和的缩合试剂, 但能得到较好的环化产率^[42~45]. DEPBT 是我们小组^[43]自行设计合成的含磷缩合试剂, 我们曾用 DEPBT 成功地合成了从云南繁缕中分离出来的环七肽. 并与 BOP 及 DPPA 作了比较. 它的突出优点是在肽链形成时引起的消旋较其它缩合试剂明显减少, 且反应比较温和^[44].

3 影响环化产率的因素

3.1 反应浓度

溶液法中除硫酸酯法外,由线型肽合成环肽均要求高度稀释.对含奇数个氨基酸的寡环肽,如环三肽和环五肽等既使在高度稀释的条件下也易发生分子间反应生成线型及环状聚合物.因此导致环化产率大大降低.但可利用这一点进行二聚反应合成有 C_2 对称性的环肽,如环十肽 GS 的合成可用线型五肽 Val-Orn(z)-Leu-*D*-Phe-Pro 活泼酯法关环得到.即使在浓度为 0.3 mmol/L 的条件下环二聚体仍然占很大比例(55 %)^[46].尽管如此,高度稀释仍是一种减少环二聚肽及环多聚肽等副产物的生成,从而增加线型肽环化产率的主要措施.固相合成环肽时,氨基酸的取代度低有利于环化反应的进行.如用 MBHA 树脂合成环肽,当氨基酸的取代度由 0.1 mmol/g 增加到 0.6 mmol/g 时, HPLC 上的峰显示出环二肽聚合的产率也由 8 % 增加到 19 %^[32].用 PEG-PS 合成环肽,分别用氨基酸取代度为 0.4 mmol/g 和 0.2 mmol/g 的树脂成环,取代度低的环化产率高^[47].这说明了用固相合成环肽时“稀释”也很重要.

3.2 线型肽前体的选择

无论是溶液法还是固相法合成的不同的线型肽前体序列对产率的影响都较大,日本的 Tamaki^[48]曾经将 semi-GS 的线型肽序列全部合成出来,溶液法成环,结果如下:

线性肽前体序列	n (环五肽) / n (环十肽)	环肽总产率 (%)
H-Val-Orn(z)-Leu- <i>D</i> -Phe-Pro-OH	10 90	72
H-Orn(z)-Leu- <i>D</i> -Phe-Pro-Val-OH	56 44	76
H-Leu- <i>D</i> -Phe-Pro-Val-Orn(z)-OH	97 3	58
H- <i>D</i> -Phe-Pro-Val-Orn(z)-Leu-OH	65 35	62
H-Pro-Val-Orn(z)-Leu- <i>D</i> -Phe-OH	58 2	35

因为相互作用的复杂性,易变性,使肽链的各个侧链对环化速度及其产率的影响难以确定.从大量研究结果总结出以下规律^[49]: (1) N 端与 C 端基较小的残基(Gly, Ser, -Ala, Ala)环化产率较高,除 Pro 外,其它位阻较大的如 N 端有烷基, 位有双取代基, 位有侧链的氨基酸(Val, Ile)不利于成环. (2) 成环一端为 *D* 构型,另一端为 *L* 构型有利于成环. (3) 不同构型的氨基酸交替存在于线型肽前体中,有利于环化反应的进行^[20]. (4) 分子内氢键的形成有利于成环(可通过 X 射线衍射或分子设计推测分子内氢键的存在). (5) 线型肽中部有转角趋势结构的氨基酸(Gly, Pro)有利于成环.

对固相合成环肽来说,线型肽前体序列对环化产率也有影响, Nishino 等^[50]在研究脲树脂合成环肽[Arg(Tos)-Gly-Asp(OcHex)-Phg]时发现,以 Phg 作为 C 端时环四肽的产率最高,而 Arg(Tos)为 C 端时,产率最低.

3.3 构象的影响

线型肽在溶液中有多种折叠方式.环化反应的速度、产率和副反应都与线型肽前体的 N-末端、C-末端接近的几率有关,随着要形成的环的构象和构型的稳定性增加,两端接近的机率增加.环肽构象的能量包括键角扭曲、单键的优先扭转和非键原子间的范德华力、偶极作用及氢键.酰胺键是平面的,单取代的酰胺键以反式、平面构型为稳定的形式,一个具有优势的稳定结构的环四肽应有两个 *cis* 结构,具有 γ -turn 结构,在含 Pro 的肽中,肽键为反式有利于形成 γ -turn 结构.

Tamaki^[46]用 CD(Circular dichroism) 谱研究成环过程与线型五肽构型的关系,发现成环产率高的线型序列的 CD 谱与环五肽的 CD 谱比较类似,而成环产率低的线型序列的 CD 谱则与其线型二聚体环十肽及环十肽的 CD 谱类似.

3.4 不同缩合试剂的选择

缩合试剂在不同的反应中缩合效果有较大差异. Schmidt 等^[51]分别以 DPPA, EDIC, BOP 和 HB-TU 合成环四肽(*D*-Orn-Phe-*D*-Phe-Gly),结果表明,用 DPPA 为缩合试剂产率较高(50 %60 %),而 HB-TU 则很低(10 %15 %).在环五肽 Tyr-c(*D*-Orn-Phe-*D*-Phe-Gly)的合成中,HB-TU/DMAP 合成的产率却较高(45 %).一般认为位阻较大的线型肽用缩合效率高的缩合试剂有利于环化的进行.

3.5 温度和溶剂的影响

高温有利于线型肽链克服自己的扭曲张力, 增加首尾相遇的机会有利于环化, 可加速环化的速度^[52], 但温度过高, 副反应也随之增加, 且增加了消旋化的可能性. 低温下反应时间过长, 也会有副产物产生. 为了提高环肽的产率, 反应开始时在低温下进行, 缩合试剂加完后反应一段时间再升至室温搅拌, 有利于抑制副反应.

溶剂的选择对成环产率也有明显影响, 尤其在固相合成中, 树脂在不同溶剂中溶胀性不同使反应有很大差异. Taylor 等^[53]对混合溶剂在固相成环中的作用进行了研究. 发现溶剂的极性与溶胀性决定环肽及二聚体的产率, 极性大, 溶胀性好的溶剂有利于环肽的合成, 其顺序如下:

DMSO-NMP(体积比 1:4) > THF-NMP, DMF, DMF-CH₂Cl₂(1:1) > CH₂Cl₂-DMF(96:4).

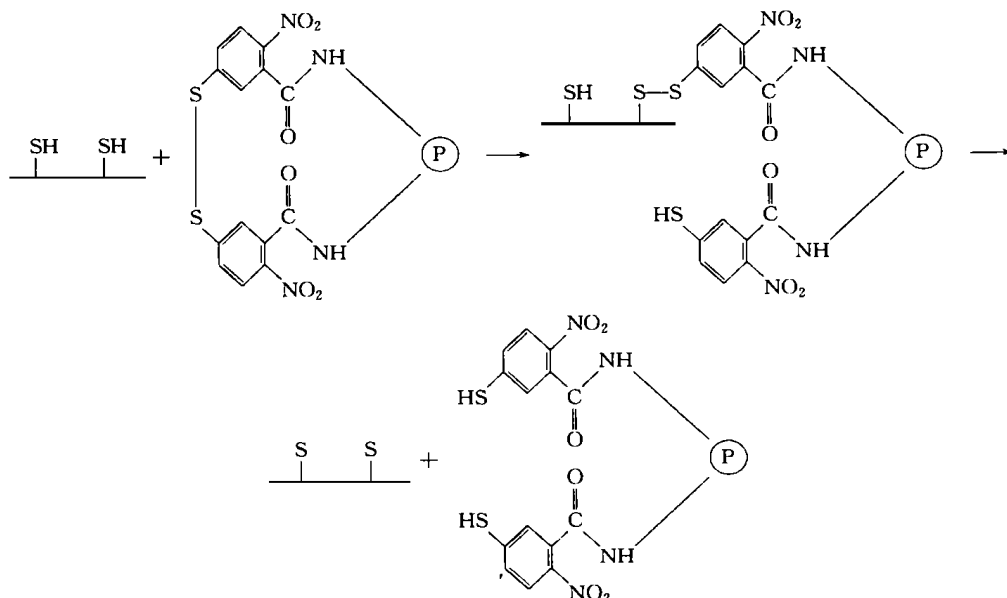
4 杂环肽的合成

杂环肽的氨基酸(包括非蛋白氨基酸)残基之间存在的非酰胺键主要是酯键和二硫键. 酯键的形成与酰胺键的形成类似, 二硫键相对而言与纯环肽的合成相差较大, 下面分别介绍这两类成键反应.

4.1 二硫键的合成

二硫键广泛存在于激素、酶和免疫球蛋白中^[54,55]. 二硫键被认为在稳定有生物活性的构象方面起了重要的作用. 为了进一步提高生物活性, 人们往往在天然产物中引入二硫键对生物活性肽进行结构修饰^[56]. 二硫键成环分为溶液法和固相法. 通常溶液中合成二硫键的方法是先合成带有巯基保护的 Cys 残基的线型肽前体, 然后脱去 Cys 的保护基, 氧化成二硫键后成环, 或直接将带保护基的 Cys 氧化成为 —S—S—键. Cys 的常用保护基有 AcM, Trt, 4-MeBzl 和 4-MeOBzl 等. 二硫键的形成其实是一种氧化反应, 所以氧化剂的选择很重要. 常用氧化剂有先脱保护基再环化的氧化剂, 如 DMSO, K₃Fe(CN)₆, H₂O₂ 以及空气等. 有直接氧化不需脱保护的氧化剂, 如 I₂ (只能脱去 AcM, Trt), Tl(tfa)₃, 氯硅烷-砷类氧化剂^[57,58]等. Albericio 等^[59]利用 Tl(tfa)₃ 作氧化剂将固载在树脂上的肽氧化生成 —S—S—键, 并将它与 I₂ 作氧化剂进行比较. 但 Tl(tfa)₃ 很大的缺点便是毒性太大. Kudryavtseva 等^[60]研究了在溶液中 HIV-2 Cys⁵⁹⁷与 Cys⁶⁰²的 —S—S—关环, 因为在这两个半胱氨酸间的二硫键被认为是免疫显性的抗原决定簇形成的关键所在. 他们对 I₂, H₂O₂, K₃Fe(CN)₆ 及空气等氧化剂进行了比较, 结果以 H₂O₂ 为氧化剂进行氧化反应效果最好, 副产物少, 简便, 反应速度快.

最近 Annis 等^[61]研究出一新型固相载体——Ekathiox 树脂, 它能使游离的巯基在温和条件下关环, 反应在一定 pH 值的缓冲溶液, 乙醇-甲醇溶液中进行, 加入过量的树脂, 于室温反应便能得到纯度较高的环化产物. 此树脂还能重复利用. 反应式如下:



4.2 环酯肽的合成

天然存在的环酯肽有恩镰孢菌素(enneatins)和氨基霉素(balinomycin)等,它们的 α -羟基酸和氨基酸残基交替存在. N-末端保护的氨基酸与 C-末端保护的羟基酸缩合产生酯键而形成的环肽称为环酯肽. 一般来说,适合于酰胺键的合成方法也适合于酯键的形成,常用的制备方法有混合酸酐法和苯磺酸酐法等^[62],还有先形成酯键再成环的方法^[63,64]. Wang 等^[64]将丙氨酸与酚羟基成酯,然后再与另一端的 C 端成环形成环酯肽. 这种环酯肽较线型肽在体内存在的半衰期长,还能增强渗透力.

综上所述,现已发展了许多环肽的合成方法与合成策略,各种方法均有其特点及优缺点. 影响环肽合成的因素十分复杂,如线型肽前体序列和构象等. 虽然已初步总结了环化反应的规律,但我们还不能对一个具体的目标环肽预见其最佳反应条件及最佳线型肽前体,因此研究适合于环化反应的新树脂,总结环化的最佳线型肽前体与反应条件,以得到高产率、低消旋的环肽,同时积极开发有应用前景的生物活性环肽的研究也是今后多肽化学领域研究的重要课题.

参 考 文 献

- 1 Abbreviations Used for Amino Acids Follow the Rules of the IUPAC - IUB Commission of Biochemical Nomenclature in J. Biol. Chem. [J], 1989, **264**: 633-673
- 2 Ovchinnikov Y. A., Ivanov V. T.. Tetrahedron[J], 1975, **31**: 2 177-2 209
- 3 Yoshimi H.. Life Sci. [J], 1978, **22**: 2 189-2 197
- 4 Nakanishi S.. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. [J], 1976, **73**: 4 319-4 323
- 5 Pettit G. R., Kamano Y., Brown P. *et al.*. J. Am. Chem. Soc. [J], 1982, **104**: 905-907
- 6 Brazeau, P., Vale W., Bruggs R. *et al.*. Science[J], 1973, **179**: 77—79
- 7 Carter O. C., Moore R. E., Mynderse J. *et al.*. J. Org. Chem. [J], 1984, **49**: 236-241
- 8 ZHAO Yu-Rui, WANG Xian-Kai, ZHOU Jun *et al.*. Chinese Journal of Chemistry[J], 1995, **13**(6): 552—556
- 9 ZOU Cheng, HAO Xiao-Jiang, ZHOU Jun. Acta Botanica Yunnanica[J], 1993, **15**(4): 399-402
- 10 ZHOU Jun(周俊), TAN Ning-Hua(谭宁华). Abstracts of Unesco Regional Symposium on Chemistry of Medicinal Plants(UNESCO RSCMP 2000) [C], 2000: 61
- 11 Al-obeidi F., Castrucci Ana M. del., Hadley Mac E. *et al.*. J. Med. Chem. [J], 1989, **32**: 2 555-2 561
- 12 Kitada X.. WO 96/ 34012A1 [P], 1996
- 13 Gursoy R. N., Siahaan T. J.. J. Pept. Res. [J], 1999, **53**: 414-421
- 14 Gursoy R. N., Siahaan T. J.. J. Pept. Res. [J], 1999, **53**: 422-431
- 15 HUANG Hai(黄海), CHENG Jin-Pei(程津培), GAO Xiao-Hu(高翔虎) *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 1998, **19**(suppl.): 174-175
- 16 HU Xu-Bo(胡旭波), CHENG Jin-Pei(程津培), HAN Xin-Xin(韩鑫鑫) *et al.*. Chem. J. Chinese Universities(高等学校化学学报) [J], 1998, **19**(suppl.): 176—177
- 17 Lagarias J. C., Houghter R. A., Rapoport H.. J. Am. Chem. Soc. [J], 1978, **100**: 8 202-8 209
- 18 Jacquier R., Lazaro R., Ranirisheno H. *et al.*. Int. J. Pept. Prot. Res. [J], 1987, **30**: 22-32
- 19 Schmidt U., Langner J.. J. Pept. Res. [J], 1997, **49**: 67-73
- 20 Ji Ai-Xue, Bodanszky M.. Int. J. Pept. Prot. Res. [J], 1983, **22**: 590-596
- 21 Rivier J., Kupryzewski G., Varga J. *et al.*. J. Med. Chem. [J], 1988, **31**: 677-682
- 22 Zanotti G. C., Cambell B. E.. Int. J. Pept. Prot. Res. [J], 1988, **32**: 527-535
- 23 Zhang L., Tam J. P.. Tetrahedron Lett. [J], 1997, **38**: 4 375-4 378
- 24 Aimoto S., Mizoguchi N., Hoji H. *et al.*. Bull. Chem. Soc. Jpn. [J], 1989, **62**: 524—531
- 25 Meutermans W., Golding S., Bourne G. *et al.*. Abstracts of The 16th American Peptide Symposium (June 26 - July 2, 1999 Minneapolis, U. S. A.) [C]. 1999: 156
- 26 Holmes Christopher P.. J. Org. Chem. [J], 1997, **62**: 2 370-2 380
- 27 Ed. Gregg B. F.. Methods in Enzymology (Volume 289, Solid-Phase Peptide Synthesis) [M], New York: Academic Press, 1997: 175
- 28 Mengfen L., Ming F. Ch., Balaji V. N. *et al.*. Int. J. Peptide Protein Res. [J], 1996, **48**: 229-239
- 29 Bloomberg G. B., Askin D., Gargaro A. R. *et al.*. Tetrahedron Lett. [J], 1993, **34**: 4 709-4 712
- 30 Mendre C., Pascal R., Calas B.. Tetrahedron Lett. [J], 1994, **35**: 5 429-5 432
- 31 Romanovskis P., Spatola A. F.. J. Pept. Res. [J], 1998, **52**: 356-374
- 32 Cabrele C., Langer M., Beck-Sickinger. J. Org. Chem. [J], 1999, **64**: 4 353-4 361

- 33 Akaji Kenichi, Kiso Yoshiaki. *Tetrahedron Lett.* [J], 1997, **38**: 5 185-5 188
- 34 Valero L., Giralto E., Andreu D. J. *Pept. Res.* [J], 1999, **53**: 56-57
- 35 Schiller P. W., Nguyen T. M., Miller J. J. *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1985, **25**: 171-177
- 36 Plaue S. *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1990, **35**: 510-517
- 37 Felix A. M., Wang C. T., Heimer E. P. *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1988, **31**: 231-238
- 38 McMurray S., Lewis C. A., Obeyesekere N. V. *Pept. Res.* [J], 1994, **7**(4): 195-202
- 39 Arttamangkul S., Arbogast B., Barofsky D. *et al.* *Lett. Pept. Sci.* [J], 1996, **3**: 357-366
- 40 Eds. Kaumaya P. T. P., Hodges R. S. *Proceedings of the 14th American Peptide Symposium* [C], Mayflower: Scientific Ltd., 1996: 839
- 41 Gobbo M., Biondi L. *J. Pept. Res.* [J], 1997, **50**: 336-341
- 42 Said-Nejad E., Felder E. R., Mierke D. F. *et al.* *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1993, **39**: 145-160
- 43 YE Yun-Hua (叶蕴华), FAN Chong-Xu (范崇旭), ZHANG De-Yi (张德仪). *Chem. J. Chinese Universities* (高等学校化学学报) [J], 1997, **18**: 1 086-1 092
- 44 Li Hai-Tao, Jiang Xiao-Hui, Ye Yun-Hua *et al.* *Organic Letters* [J], 1999, **1**: 91-94
- 45 Deng J., Hamade Y., Shioiri T. *Tetrahedron Lett.* [J], 1996, **37**: 2 261-2 264
- 46 Waki M., Izumiya N. *J. Am. Chem. Soc.* [J], 1967, **89**: 1 278-1 279
- 47 Eds.: Kaumaya P. T. P., Hodges R. S. *Proceedings of the 14th American Peptide Symposium* [C], Mayflower: Scientific Ltd. (England), 1996: 125-127
- 48 Makota Tamaki, Sadatoshi Akabori, Ichiro Muramatsu. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* [J], 1993, **66**: 3 113-3 115
- 49 John M. H., Chamberlin A. R. *Chem. Rev.* [J] 1997, **97**: 2 243-2 266
- 50 Nishino N., Xu M., Mihara H. *et al.* *Tetrahedron Lett.* [J], 1992, **33**: 1 479-1 482
- 51 Schmidt R., Neubert K. *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1991, **37**: 502-507
- 52 Berezhkovshiy L., Pham S., Reich E. P. *J. Pept. Res.* [J], 1999, **54**: 112-119
- 53 Zhang W., Taylor J. W. *Tetrahedron Lett.* [J], 1996, **37**: 2 173- 2 176
- 54 Creighton T. E. *Bioessays* [J], 1988, **8**: 57-63
- 55 Srinivasan N., Sowdhamini R., Ramakrishnan C. *et al.* *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1990, **36**: 147-155
- 56 Ko J. H., Jang W. H., Kim E. K. *et al.* *Biochem. Biophys. Res. Commun.* [J], 1996, **221**: 631-634
- 57 Akaji D., Nishiuchi H., Kiso Y. *Tetrahedron Lett.* [J], 1995, **36**: 1 875-1 878
- 58 WANG Liang-You (王良友), PAN He-Ping (潘和平), CHEN Zheng-Ying (陈正英). *Chinese Organic Chem. J.* (有机化学) [J], 1998, **18**: 576-580
- 59 Albericio F., Hammer R. P., Garcia-Echeverria C. *et al.* *Int. J. Pept. Prot. Res.* [J], 1991, **37**: 402-413
- 60 Kudryavtseva E. V., Sidorova M. V., Ovchinnikov M. V. *et al.* *J. Pept. Res.* [J], 1997, **49**: 52-58
- 61 Annis I., Chen L., Barany G. *J. Am. Chem. Soc.* [J], 1998, **120**: 7 226-7 238
- 62 Meienhofer J. *J. Amer. Chem. Soc.* [J], 1970, **92**: 3 771-3 777
- 63 NI Jing-Man (倪京满), WANG Rui (王 锐), JIA Zheng-Ping (贾正平) *et al.* *Chem. J. Chinese Universities* (高等学校化学学报) [J], 1998, **19**: 243-245
- 64 Wang B., Nimkar K., Wang W. *J. Pept. Res.* [J], 1999, **53**: 370-381

Progress in the Study on Synthetic Method of Cyclopeptide

TANG Yan-Chun, TIAN Gui-Ling, YE Yun-Hua *

(Key Laboratory of Bioorganic and Molecular Engineering of Education Ministry,
College of Chemistry and Molecular Engineering, Peking University, Beijing 100871, China)

Abstract The synthetic method and strategy of cyclopeptide were presented, some efficient coupling reagents were introduced, and different influence factors such as the concentration of reaction solution, structure of linear peptide precursor, conformation etc, were discussed.

Keywords Cyclopeptide; Coupling reagent; Cyclization

(Ed.: R, J, L)